

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲 先 第 385 号	氏 名	平野 隆之
審査委員	主査 長宗秀明 副査 宇都義浩 副査 音井威重		
学位論文題目 Studies on evaluation of bilirubin glucuronidation activity using hepatoma cell lines (肝癌細胞株を用いたビリルビングルクロン酸抱合活性評価に関する研究)			
審査結果の要旨 <p>医薬品の開発における非臨床毒性試験の結果をヒトへ外挿するにあたっては、ヒトと動物間の代謝特性の類似点と相違点を理解することが重要である。さらに、遺伝子やタンパク質のレベルで種差のメカニズムを明らかにできれば、ヒトに対する外挿はより正確になる。特に、肝癌由来細胞株を使用したビリルビングルクロン酸抱合評価の培養システムは、遺伝子またはタンパク質レベルでの種差の詳細を検討する上で役立つと考えられる。</p> <p>そこで本研究は、2D 及び 3D 培養系で培養されたヒト肝癌由来細胞株 (HepG2) のビリルビングルクロン酸抱合活性を分析、比較する実験を行い、ビリルビン代謝活性評価における 3D 培養系の有用性を検討した。本実験では、2D 及び 3D 培養系を用いた HepG2 のビリルビン代謝反応開始後、1 時間目にビリルビンモノグルクロニドが検出され、特に 3D 培養系下ではビリルビンモノグルクロニドの相対量が培養 72 時間目まで上昇した。3D 培養系で培養された HepG2 における抱合型ビリルビンの相対量は、反応開始後 10 時間目以降に 2D 培養系において生成されたものと比較して大幅に増加した。このように、3D 培養系で培養された HepG2 は、2D 培養系よりも高い代謝活性を示し、ビリルビングルクロン酸抱合活性の評価において 3D 培養系の有用性を確認することができた。</p> <p>次に、確立した 3D 培養系を用いたマイクロソーム実験により、ヒトとイヌのビリルビングルクロン酸抱合活性の比較を試みた。マイクロソーム実験では、以前の報告と一致して、イヌでのビリルビングルクロン酸抱合活性はヒトよりも低かった。3D 培養実験では、ビリルビンモノグルクロニドが HepG2 とイヌ肝癌細胞の両方で生成されたが、イヌ肝癌細胞培養液中に残存した非抱合型ビリルビンが、反応開始後 10 時間目には明らかに減少した。理論的には、添加されたビリルビン量は生成されたビリルビンモノグルクロニドよりもはるかに多いため、残存ビリルビン量はほとんど変化しないはずである。このことから、スフェロイド間隙領域の細胞接着が、イヌの肝癌細胞培養液中のビリルビン及びビリルビンモノグルクロニドの挙動に影響を与えた可能性があると推定された。この結果から、細胞培養及びビリルビングルクロン酸抱合評価条件をさらに最適化する必要があると考えられた。</p> <p>以上、本研究は 3D 培養システムを使用した肝癌由来細胞株におけるビリルビングルクロン酸抱合評価法を開発したものであり、今後この評価法が医薬品の開発に活用されることが期待され、本論文は博士 (工学) の学位授与に値するものと判定する。</p>			